

# HIV ile enfekte obez bireylerde Sistatin-C

## Cystatin-C in HIV-infected obese individuals

Dilek YAĞCI-ÇAĞLAYIK<sup>1</sup>, Hakkı ARIKAN<sup>2</sup>, Serpil ÇEÇEN<sup>3</sup>

### ÖZET

**Amaç:** Sistatin-C böbrek fonksiyonlarını gösteren glomerüler filtrasyon hızını (GFR) belirlemede kullanılan bir parametre olup obezitede arttığı bilinmektedir. Bu çalışmada amacımız HIV ile enfekte olan obez bireylerde GFR hesaplamasında Sistatin-C'nin etkisini araştırmaktır.

**Yöntem:** Enfeksiyon Hastalıkları HIV polikliniğine başvuran HIV ile enfekte hastalardan obez olanlar çalışmaya dahil edildi. Bireylerin düz bir zeminde çıplak ayakla ve sırtları duvara gelecek şekilde dururken boy uzunlukları ölçüldükten sonra bioimpedans cihazında (Tip-BC-418-MAIII, Tanita Body Composition Analyzer; Tanita, Tokyo, Japan) tüm vücut analizi yapılarak kilo, beden kütle indeksi (BMI), yağ yüzdesi, yağ ağırlığı ve yağsız ağırlıkları tespit edildi. Biyokimyasal verilerine retrospektif olarak ulaşılarak değerlendirme yapıldı. Sistatin-C, kreatinin değerleri ölçülmüş olan hastaların CKD- EPI GFR (Chronic Kidney Disease Epidemiology Collaboration equation glomerular filtration rate), GFRcr (kreatinin-GFR), GFRcys (sistatin-GFR) ve GFRcr-cys (kombine-GFR) değerleri hesaplandı.

**Bulgular:** Yağ yüzdesi fazlalığı %9.21'in üstünde olan HIV ile enfekte bireylerde (n=5), sistatin-C'nin; vücut ağırlığı ve total kolesterol ile orantılı olarak yüksek bir

### ABSTRACT

**Objective:** Cystatin-C is a parameter used to determine the glomerular filtration rate (GFR) which indicates renal function. It is also known that cystatin-C increases in obesity. The aim of this study was to investigate the effect of cystatin-C on GFR calculation in HIV-infected obese individuals.

**Methods:** Female and male HIV-infected obese patients who applied to the Infectious Diseases outpatient clinic were included in the study. Their heights were measured while they were barefooted and back touching a wall. The weight, body mass index (BMI), fat percentage, fat mass and fat free mass, were determined using Bio-impedance analyzer device (Tip-BC-418-MAIII, Tanita Body Composition Analyzer; Tanita, Tokyo, Japan). Biochemical data of patients were evaluated retrospectively. CKD- EPI GFR (Chronic Kidney Disease Epidemiology Collaboration equation glomerular filtration rate), GFRcr (creatinin-GFR), GFRcys (cystatin-GFR) ve GFRcr-cys (combined-GFR) were calculated using creatinin and cystatin-C values.

**Results:** Cystatin-C proportionally increased with a high correlation with body weight and total cholesterol, and decreased with GFRcr, GFRcys, GFRcr-cys in the

<sup>1</sup>Marmara Üniversitesi Pendik Eğitim ve Araştırma Hastanesi Enfeksiyon Hastalıkları Kliniği, İstanbul

<sup>2</sup>Marmara Üniversitesi Tıp Fakültesi İç Hastalıkları Anabilim Dalı- Nefroloji, İstanbul

<sup>3</sup>Marmara Üniversitesi Pendik Eğitim ve Araştırma Hastanesi Spor Fizyolojisi Bölümü, İstanbul



İletişim / Corresponding Author : Serpil ÇEÇEN

Marmara Ü Pendik EAH Spor Fizyolojisi 34050 İstanbul - Türkiye

Tel : +90 505 278 82 37

E-posta / E-mail : drserce@gmail.com

Geliş Tarihi / Received : 30.10.2019

Kabul Tarihi / Accepted : 24.11.2019

DOI ID : 10.5505/TurkHijyen.2019.43650

Yağcı-Çağlayık D, Arıkan H, Çeçen S. HIV ile enfekte obez bireylerde Sistatin-C. Türk Hij Den Biyol Derg, 2019; 76(4): 461-468

korelasyon ile arttığı saptanırken GFR cre, GFR cys, GFR cre-cys artışı ile orantılı olarak azaldığı tespit edildi. Yağ yüzdesi fazlalığı %9.21 altında olan HIV ile enfekte bireylerde (n=29) ise sistatin-C'nin GFRcys ile orantılı olarak azaldığı tespit edildi.

**Sonuç:** HIV ile enfekte ve yağ dokusu yüksek olan bireylerde vücut ağırlığı ile sistatin-C arasındaki artışın daha yüksek korelasyon ile gösterilmesi, HIV enfeksiyonundan kaynaklanan inflamasyonun ve fazla yağ dokusunun sistatin-C nin yükselmesine katkıda bulunmuş olabileceğini düşündürmüştür. Bu konuda daha geniş serilerde daha fazla çalışmaya ihtiyaç olduğu sonucuna varılmıştır.

**Anahtar Kelimeler:** HIV enfeksiyonu, GFR, obezite, yağ dokusu

group of HIV infected and excess fat percentage over 9.21%. Cystatin-C decreased with GFRcys in the group of HIV infected and excess fat percentage under 9.21%.

**Conclusion:** Higher correlation with cystatin-C and high body weight in HIV infected with excess fat percentage obese individuals suggests that inflammation due to HIV infection and excess fat mass together contribute to cystatin-C increasing levels. More studies are needed in large number of groups.

**Key Words:** HIV infection, GFR, obesity, fat mass

## GİRİŞ

Dünyada olduğu gibi ülkemizde de obezite en önemli sağlık sorunlarından biri haline gelmiş durumdadır (1,2). Vücutta yağ dokusunun artmasıyla karakterize olan obezitenin diabet, kardiyovasküler hastalıklar (3) ve böbrek hastalıkları (4) gibi kronik hastalıklara zemin hazırladığı bilinmektedir. Vücut Kitle İndeksi (BMI) artışının erken dönem böbrek hastalıkları için bağımsız bir risk faktörü olduğu bilinmektedir (5).

Son yıllarda yapılan çalışmalar vücutta yağ dokusu artmasının inflamasyonu tetiklediğini ve bu nedenle obezitenin 'düşük dereceli inflamasyon' olduğu bilinmektedir (6). Obezite ve inflamasyon ilişkisi ortaya konulduktan sonra bu konuda yapılan çalışmalar da hız kazanmıştır. Çeşitli inflamatuvar markerların obezitede arttığını gösteren çalışmalar artarak devam etmektedir.

Son yıllarda yapılan sınırlı sayıda çalışmada sistatin-C'nin de inflamasyonla ilişkili olduğuna dair veriler bulunmaktadır (7). İnsanlarda sistatin C nin normal damar yapısında bulunduğu, aterosklerik

damarda katapsin S'nin arttığı ve sistatin-C nin azaldığı gösterilmiştir (8). Obezite ve sistatin-C ilişkisini gösteren çalışmalar sınırlı olmakla birlikte sistatin-C nin BMI ve yağ dokusu ile orantılı olarak arttığı gösterilmiştir (5). Sistatin-C'nin düşük moleküler ağırlıklı olması (9) ve vücut kas dokusundan etkilenmemesi nedeniyle böbrek fonksiyonlarını takip etmede kreatininden daha anlamlı ve güvenilir olduğunu gösteren çalışmalar bulunmaktadır (10). Kardiyovasküler hastalık ve son dönem böbrek hastalığı riskini daha erken dönemde tespit etmek için kreatinin ve sistatin-C'nin Glomerüler Filtrasyon Hızı (GFR) hesaplamasında beraber kullanımı önerilmektedir (11). HIV ile enfekte hastalarda sistatin-C seviyesinin yüksek olabildiği ve bu durumun metabolik sendrom için bir risk faktörü olduğu gösterilmiştir (12). Ayrıca HIV enfekte bireylerde Hepatit B ve C enfeksiyonuna yakalanma riskinin yüksek olması, virüsün kendisinin böbreklere doğrudan etkisi gibi nedenlerle böbrek hastalığı riskinin yüksek olduğu bilinmektedir (13). HIV enfekte bireylerde kas dokusu azalmasının (14)

serum kreatinin seviyesini etkilediği ve bu nedenle bu kişilerde GFR hesaplanırken sistatin-C kullanımının kreatinine göre daha güvenilir bir parametre olduğu yapılan çalışmalarda gösterilmiştir (15).

Bu çalışmada amacımız; HIV hastalarında GFR hesaplanırken kullanılması önerilen ve obezitede de arttığı bilinen sistatin-C'nin, obez HIV hastalarında böbrek fonksiyonlarını belirlemedeki yerini araştırmaktır.

## GEREÇ ve YÖNTEM

Enfeksiyon Hastalıkları HIV polikliniğine başvuran HIV enfekte hastalardan obez olanlar (n=34) çalışmaya dahil edildi. Marmara Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik kurulundan onay alındıktan sonra çalışmaya başlandı (No: 09.2019.369). Bireylerin biyokimyasal verilerine ulaşılarak geriye yönelik olarak değerlendirme yapıldı. Başvuran bireylerin düz bir zeminde çıplak ayakla ve sırtları duvara gelecek şekilde dururken boy uzunlukları ölçüldükten sonra bioimpedans cihazında (Tip-BC-418-MAIII, Tanita Body Composition Analyzer; Tanita, Tokyo, Japan) tüm vücut analizi yapılarak kilo, vücut kitle indeksi (BMI), yağ yüzdesi, yağ ağırlığı ve yağsız ağırlıkları tespit edildi. Nefropati öyküsü olan ve GFR cre <60ml/min/1.73m<sup>2</sup> tespit edilenler, kortikosteroid kullanan, tiroid hastalığı ve diyabet öyküsü olan hastalar çalışmaya dahil edilmedi. Bu özellikleri taşıyan 2 hasta çalışma dışı bırakıldı. Sistatin C, kreatinin değerleri ölçülmüş olan hastaların CKD-EPI GFR (Chronic Kidney Disease Epidemiology Collaboration equation glomeular filtration rate), GFRcr (kreatinin-GFR), GFRcys (sistatin-GFR) ve GFRcre-cys (kombine-GFR) değerleri hesaplandı.

İstatistiksel Analiz: Çalışma kapsamında toplanan hasta verileri IBM Statistical Package for the Social Sciences (SPSS) for Windows 21.0 paket programı ile analiz edildi. Kesikli veriler için sıklık ve yüzde, sürekli veriler için ortalama±standart sapma tanımlayıcı değer olarak verildi.

Çalışmaya katılan hasta sayısı 50'nin altında

olduğu için normal dağılıma uygunluk değerlendirmesi için Shapiro-Wilk testi kullanıldı. Normal dağılıma uyduğu için, sürekli değişkenlerin karşılaştırılmasında "Pearson Korelasyon Analizi" kullanıldı. Sonuçlar, p değerinin 0.05'den küçük olduğu durumlarda istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

## BULGULAR

Biyokimyasal ve antropometrik bulgulara ait değerler Tablo 1'de görülmektedir.

Kreatinin değerlerinin kilo, BMI ve yağ ağırlığının birlikte değişmediğini ancak kas ağırlığı ile pozitif yönde korelasyon olduğunu tesbit ettik. Sistatin-C'nin; kilo, BMI, yağ ağırlığı ve kas ağırlığı ile birlikte değişmediğini tesbit ettik. GFRcre değerlerinin vücut ağırlığı ve BMI ile azaldığını, GFRcys değerlerinin BMI ile azaldığını tesbit ettik. (Tablo 2,3,4,5).

## TARTIŞMA

HIV ile enfekte olan obez bireylerde sistatin-C nin obezite parametrelerinden etkilenmediğini tespit ettik.

HIV enfeksiyonu olan obez bireylerde sistatin-C'nin durumunu gösteren literatür kaynağı çok az olmakla birlikte metabolik sendromu olan HIV ile enfekte bireylerde yapılan çalışmalarda sistatin-C'nin arttığı gösterilmiştir (12). Yapılan diğer bir çalışmada ART tedavisi sonrası vücuttaki inflamatuvar markerların azalmasının kilo artışına ve abdominal yağ dokusunun artmasına neden olabileceği, bu artışın da metabolik sendroma yol açabileceği düşünülmüştür (16). HIV enfeksiyonunun kendisinden kaynaklanan inflamasyonun yanı sıra, HIV enfekte obez bireylerdeki inflamasyonun patofizyolojisini anlamak için ayrıntılı çalışmalara ihtiyaç olduğu düşünülmektedir (17). HIV enfekte kadınlarda yapılan bir çalışmada abdominal yağ dokusu fazla olanlarda kardiyak risklerin de arttığı gösterilmiştir (18). HIV enfekte bireylerde sistatin-C ile böbrek fonksiyonlarını değerlendirmek için

**Tablo 1.** HIV enfekte bireylere ilişkin tanımlayıcı özellikler

| HIV enfekte bireyler (n=32) |                           |
|-----------------------------|---------------------------|
|                             | Ortalama ± Standard sapma |
| Kreatinin (mg/dL)           | 0.91±0.14                 |
| Sistatin-C (mg/L)           | 0.99±0.18                 |
| TSH (mIU/L)                 | 1.85±1.12                 |
| GFRcre (mL/dk)              | 100.8±15.3                |
| GFRcys (mL/dk)              | 87.3±20.5                 |
| GFRcre-cys (mL/dk)          | 92.8±16.5                 |
| Total kolesterol (mg/dL)    | 195.9±50.1                |
| LDL kolesterol (mg/dL)      | 123.7±34.4                |
| HDL kolesterol (mg/dL)      | 41.4±10.2                 |
| Trigliserid (mg/dL)         | 158.9±94.8                |
| Vücut Ağırlığı (kg)         | 83.5±9.5                  |
| BMI kg/m <sup>2</sup>       | 28.6±4.4                  |
| Yağ yüzdesi (%)             | 22.7±8.5                  |
| Yağ ağırlığı (kg)           | 19.4±8.8                  |
| Kas ağırlığı (kg)           | 64.2±7.2                  |

Cre : Kreatinin, Cys: Sistatin, GFRcre: glomerular filtration rate kreatinin, GFRcys: glomerular filtrasyon hızı sistatin, GFRcre-cys: glomerular filtrasyon hızı kreatinin-sistatin, BMI: Vücut kütle indeksi

**Tablo 2.** HIV enfekte bireylerde vücut ağırlığının sistatin C, kreatinin ve GFR değerleri ile ilişkisi

| HIV- POZİTİF | Vücut Ağırlığı |       |
|--------------|----------------|-------|
|              | r              | p     |
| Sistatin-C   | 0.237          | 0.216 |
| Kreatinin    | 0.176          | 0.343 |
| GFRcre       | -0.460         | 0.011 |
| GFRcys       | -0.283         | 0.137 |
| GFRort       | -0.388         | 0.038 |

**Tablo 3.** HIV enfekte bireylerde vücut kitle indeksinin (BMI) sistatin C, kreatinin ve GFR değerleri ile ilişkisi

|            | BMI    |       |
|------------|--------|-------|
|            | r      | p     |
| Sistanin-C | 0.333  | 0.077 |
| Kreatinin  | -0.050 | 0.789 |
| GFRcre     | -0.434 | 0.016 |
| GFRcys     | -0.409 | 0.028 |
| GFRort     | -0.469 | 0.010 |

BMI: Vücut kitle indeksi

**Tablo 4.** HIV enfekte bireylerde yağ ağırlığının sistatin-C, kreatinin ve GFR değerleri ile ilişkisi

|            | Yağ Ağırlığı |       |
|------------|--------------|-------|
|            | r            | p     |
| Sistanin-C | 0.240        | 0.209 |
| Kreatinin  | -0.262       | 0.155 |
| GFRcre     | -0.254       | 0.175 |
| GFRcys     | -0.324       | 0.087 |
| GFRort     | -0.308       | 0.104 |

**Tablo 5.** HIV enfekte bireylerde kas ağırlığının sistatin-C, kreatinin ve GFR değerleri ile ilişkisi

|            | Kas Ağırlığı |       |
|------------|--------------|-------|
|            | r            | p     |
| Sistanin-C | 0.027        | 0.888 |
| Kreatinin  | 0.547        | 0.001 |
| GFR cre    | -0.286       | 0.125 |
| GFR cys    | 0.012        | 0.952 |
| GFR ort    | -0.138       | 0.477 |

yapılan geniş kapsamlı bir çalışmada kilo, BMI, yağ yüzdesi ve yağ ağırlığı gibi antropometrik değerlerle sistatin-C ilişkisini gösteren verilerin çalışmada kısıtlı kullanıldığı görülmüştür (19).

Bugüne kadar yapılan çalışmalarda sistatin-C'nin BMI ile arttığı gösterilmiş olup, BMI artışının da böbrek hastalıkları için bağımsız bir risk faktörü olduğu düşünülmüştür. Obezitede mikro veya makroalbuminuri, ileri evre böbrek hastalığı görülme riskinin, yükselmiş sistatin-C seviyesiyle ilişkili olduğu görülmüştür (5). Obezitede yağ dokusunun inflamasyon markerlarının salınımını artırdığı, sistatin-C nin de salınımının inflamasyona sekonder olarak arttığı düşünülebilir. Bu bulguyu doğrular nitelikte son zamanlarda yapılan çalışmalarda sistatin-C'nin yağ dokusundan salgılandığına dair verilere rastlanmaktadır (20). Bu durum obez bireylerde GFR hesaplanmasında sistatin-C'nin kullanılmasının ne derece güvenilir olduğu sorusunu akla getirmektedir. Sistatin-C'nin kas dokusundan etkilenmediği bilinmekte olup bel çevresi yüksek erişkinlerde yapılan bir çalışmada sistatin-C'nin arttığı tespit edilmiş olsa da sistatin-C obezite ilişkisini incelerken BMI ve bel çevresi ölçümünden ziyade daha objektif olabilecek olan yağ dokusu ölçümüne yoğunlaşmak gerektiği düşünülmektedir. (5). Sistatin-C'nin subkutanöz ve omental adipoz dokudan salınımının arttığı gösterilmiş olması bel çevresi genişlemiş metabolik sendrom vakalarında sistatin-C yüksekliğinin nedenini açıklar nitelikte

görölmektedir (21).

Bu çalışmada hastaların ortalama BMI değeri 28,6 olarak tesbit edilmiş olup obezite sınıflamasına göre aşırı kilolu olarak tanımlandı. Sistatin-C değerinin bu hastalarda GFR parametresi olarak rahatlıkla kullanılabileceği, yağ dokusundan, vücut ağırlığından etkilenmediği gösterildi. Yağ dokusundan da salındığı belirtilen Sistatin-C değerinin obezitenin aşırı kilolu sınıflarından daha üst sınıflarında, yağ doku fazlalığı arttıkça yükselebileceği düşünülmüştür. Bu çalışmadaki aşırı kilolu hastalarda böbrek fonksiyonlarını değerlendirmede sistatin-C kullanımının doğru bir gösterge olduğu ve yanıltmadığı ve GFR'ı daha düşük göstermediği düşünüldü. Yağ dokusundan salınan sistatin-C'nin GFR'ı yanlış düşük gösterip göstermeyeceğini söyleyebilmek için daha fazla sayıda hasta ve daha obez, yağ dokusu daha yüksek olan bireylerde yapılacak çalışmalara ihtiyaç vardır.

Çalışmanın kısıtlılıkları: Hasta grubunun aşırı kilolu grupla sınırlı olması, obezite derecesi yüksek grubun ve kontrol grubunun olmaması.

## SONUÇ

Daha fazla hasta, obezite derecesi yüksek grup ve obez olmayan kontrol grubuyla çalışmanın genişletilmesi ve inflamatuvar belirteçlerle birlikte analizlerin tekrar düzenlenmesi planlanmaktadır.

## KAYNAKLAR

1. GBD 2015 Obesity Collaborators, Afshin A, Forouzanfar MH, Reitsma MB, Sur P, Estep K, et al. Health effects of overweight and obesity in 195 countries over 25 years. *N Engl J Med* 2017; 377:13-27.
2. Oğuz A, Temizhan A, Abaci A, et al. Obesity and abdominal obesity; an alarming challenge for cardio-metabolic risk in Turkish adults. *Anadolu Kardiyol Derg* 2008; 8: 401-6.
3. Grundy SM. Obesity, metabolic syndrome, and cardiovascular disease. *J Clin Endocrinol Metab* 2004;89:2595-600.
4. Satirapoj B, Supasyndh O, Mayteedol N, Punpanich D, Chairprasert A, Nata N, et al. Obesity and its relation to chronic kidney disease: a population-based, cross-sectional study of a Thai army population and relatives. *Nephrology (Carlton)* 2013;18:229-34.
5. Muntner P, Winstan J, Uribarri J, Mann D, Fox CS. Overweight and obesity and elevated serum cystatin C levels in US adults. *Am J Med.* 2008 121(4):3413-48. doi: 10.1016/j.amjmed.2008.01.003.
6. Fantuzzi G. Adipose tissue, adipokines, and inflammation. *J Allergy Clin Immunol* 2005;115:911-19.
7. Smith ER. "Cystatin C - More than a filtration marker?" *Atherosclerosis* 2013;230:173-5.
8. Shi GP, Sukhova GK, Grubb A, Ducharme A, Rhode LH, Lee RT, et al. Cystatin C deficiency in human atherosclerosis and aortic aneurysms. *J Clin Invest* 1999;104:1191-7.
9. Turk V, Bode W. The cystatins: protein inhibitors of cysteine proteinases. *FEBS Lett* 1991;285:213-9.
10. Filler G, Bokenkamp A, Hofmann W, LeBricon T, Martinez-Bru C, Grubb A. Cystatin C As A Marker of GFR -History, Indications, and Future Research. *Clinical Biochemistry.* 2005; 8:1-8.
11. Peralta CA, Shlipak MG, Judd S, Cushman M, McClellan M, Zakai NA et al. Detection of chronic kidney disease with creatinine, cystatin C, and urine albumin-to-creatinine ratio and association with progression to end-stage renal disease and mortality. *JAMA.* 2011; 305:1545-52.
12. Dragovic G, Srdic D, Musalhi KA, Soldatovic I, Kusic J, Jevtovic D, et al. Higher Levels of Cystatin C in HIV/AIDS Patients with Metabolic Syndrome. *Basic & Clinical Pharmacology & Toxicology* 2018;122:396-401 Doi: 10.1111/bcpt.12919.
13. Jones CY, Jones CA, Wilson IB, Knox TA, Levey AS, Spiegelman D, et al. Cystatin C and creatinine in an HIV cohort: the nutrition for healthy living study. *Am J Kidney Dis.* 2008 ;51(6):914-24. doi: 10.1053/j.ajkd.2008.01.027.
14. Kotler D. Nutritional Alterations Associated with HIV Infection. *JAIDS.* 2000; 25:81-7.
15. Massey D. Commentary: Clinical Diagnostic Use of Cystatin C. *Journal of Clinical Laboratory Analysis.* 2004; 18:55-60.
16. De Waal R, Cohen K, Maartens G. Systematic review of antiretroviral-associated lipodystrophy: lipodystrophy, but not central fat gain, is an antiretroviral adverse drug reaction. *PLoS ONE* 2013;8:e63623.

17. Neuhaus J, Jacobs DR Jr, Baker JV, Calmy A, Duprez D, La Rosa A, Kuller LH, Pett SL, Ristola M, Ross MJ, Shlipak MG, Tracy R, Neaton JD. Markers of inflammation, coagulation, and renal function are elevated in adults with HIV infection. *J Infect Dis.* 2010 Jun 15;201(12):1788-95. doi: 10.1086/652749.
18. Dolan SE, Hadigan C, Killilea, Sullivan MP, Hemphill L, et al. Increased cardiovascular disease risk indices in HIV-infected women. *J Acquir Immune Defic Syndr* 2005;39:44-54.
19. Lucas GM, Cozzi-Leori A, Wyatt CM, Post FA, Bormann AM, Crum- Cianflone NF et al; INSIGHT SMART Study Group. Glomerular filtration rate estimated using creatinine,cystatin C or both markers and the risk of clinical events in HIV-infected individuals. *HIV Med.* 2014;15(2):116-23. doi: 10.1111/hiv.12087.
20. Naour N, Fellahi S, Renucci JF, Poitou C, Rouault C, Basdevant A, et al. Potential contribution of adipose tissue to elevated serum cystatin C in human obesity. *Obesity (Silver Spring).* 2009;17(12): 2121-6.
21. Canello R, Henegar C, Viguerie N et al. Reduction of macrophage infiltration and chemoattractant gene expression changes in white adipose tissue of morbidly obese subjects after surgery-induced weight loss.*Diabetes* 2005;54:2277-86.